능성어 종묘생산에 관한 연구

Yasushi Tsuchihashi
Mie Prefectural Government

능성어는 농어목 바리과 능성어속에 속하고 혼슈중부이남-인도양에 분포한다. 전장 90㎝에 달하는 대형의 바리과 어류이다. 단가가 비싸고 성장도 좋아서 해산어양식 신품종의 하나로서 기대된다. 그리고 10여 년 전부터 국내의 각 기관에서 종묘생산기술 개발이 진행되고 있으나 안정된 종묘양산 및 능성어 양식경영 체제는 아직 확립되지 않았다.

미에현은 일본 중부지방에 위치하고 남북으로 연장된 해안선은 1000㎞이상 되고 수산업이 왕성한 현이다. 북부는 이세만으로 일본 최대 내만이고 남부는 태평양에 면한 리아스식해안으로 어류양식이 왕성히 이루어지고 있고 생산량7,639 ton, 생산액 48억엔으로 국내 제3위의 생산량입니다. 미에현은 참돔 다음의 새로운 양식어종으로 1996년부터 능성어와 자바리 종묘생산기술 개발에 착수하였고 2000년 이후는 10만미 이상 종묘생산에 성공하였지만, 생산은 아직 불완전하고 생잔율도 낮다.

능성어가 속한 바리과 어류는 일본국내에 11속 70종이 서식하고 있다. 이 가운데 수산에서 유용한 어류가 붉바리, 홍바리, 자바리 및 능성어 6종으로 1980년대부터 종묘생산기술 개발이 시작되었지만, 모두 양산이 곤란한 어종이다.

이들 바리과 어류 종묘생산이 곤란한 이유는 첫째, 암컷에서 수컷으로 성전환을 하기 때문에 수컷 친어 확보가 어렵다. 둘째, 사육초기(10일령까지)에 대량감모가 일어난다. 셋째, 종묘생산과정에서 발병하는 바이러스성 신경괴사증을 들 수 있다.

본 강연은 이들 과제를 해결하기 위한 연구결과를 정리한 것이다. 1장은 웅성화를 위한 투여법을 검토하고, 2장에서는 종묘생산 과정에서 사육조건에 대한 점에 있어서 자어의 활력과 그 성장에 미치는 수온, 조명 및 feed oil의 영향에 관해 검토하였다. 3장은 종묘생산에 있어서 VNN방어대책을 검토했다. 그리고 4장에서는 능성어와 다금바리 양식기술개발에 관한 본 연구결과 응용에 대해서 설명한다.

제1장 웅성화를 위한 호르몬 투여법

능성어는 자성선숙의 자웅동체성을 나타내고 일반적으로 6kg이상 대형어만 수컷이 되기 때문에 수컷친어 확보가 곤란하여 종묘생산을 실시하는데 있어서 큰 문제가 되고 있다. 바리과 어류는 암컷에 메틸테스토스테론을 투여하여 웅성화를 유발시킬 수 있는 것으로 알려져 있지만 능성어 수컷화를 위한 유효한 투여법이나 투여량 그리고 웅성화로 얻어진 정액의 유효성에 대해서는 거의 알려지지 않았다. 그래서 능성어 미성숙어에 대한 메틸테스토스테론 투여 실험을 실시하여 유효한

투여법과 투여량 그리고 그에 따라 얻어진 정자의 수정능력을 확인하였다.

실험에 이용한 어류는 천연종묘를 양성한 4세어(평균전장 49.3㎝, 평균중량 2.0㎏) 60미로 실험전에 생식선에 대해 조직학적 관찰을 실시하여 주변인기의 미성숙 암컷인 것을 확인했다.

호르몬 투여법으로서, 첫 번째 경구투여는 참돔용 배합사료에 ㎏당 메틸테스토스테론 10㎎이 되도록 첨가하였다. 그리고 주 2회 포식되게 2개월간 급이하였다. 한 개체당 평균투여량은 약 1.5㎎(75㎎/㎏) 이다. 두번째 메틸테스토스테론 임플랜트 묻기는 의료용 실리콘 튜브에 피마자유에 녹인 메틸테스토스테론 1㎎, 4㎎을 주입하여 봉입하였다. 그리고 1㎎, 4㎎ 및 control (0㎎) 임플랜트를 복강 내에 묻었다. 그리고 투여 1개월 후, 2개월 후 및 1년 후에 이들 4군에서 들어낸 후 배정확인과 생식선 적출을 하였다.

투여 2개월 후의 생식선 조직절편사진을 보면, 경구투여에서는 생식세포의 20-95%가 정세포이고 일부 정자의 형성도 확인되었다. 그러나 전체적으로 주변인기의 난이 남아있고 웅성화 정도에는 개체 차가 크고 배정 조사에서는 정액을 분비한 개체는 없었다. 또, 1년 후에는 주변인기의 미숙한 완전한 암컷으로 돌아가 있었다. 메틸테스토스테론 임플랜트 구에서는 1㎎과 4㎎ 모두 생식세포의 90% 이상이 정세포였고 정자형성이 관찰되었다. 배정조사에서는 1㎎ 구에서 40%, 4㎎ 구는 모든 개체에서 정액 분비와 활발한 정자운동이 확인되었다. 또 1년 후, 1㎎ 구는 자웅동체로 돌아갔지만, 4㎎ 구는 수컷의 상태가 유지되고 있었다. 대조구는 전 기간 동안 실험 시작 때와 마찬가지로 주변인기의 미숙한 난이 차지하고 있었다.

수정능력 확인은 메틸테스토스테론 임플랜트를 투여한 어류를 이용하여 인공수정을 하였다. 성숙한 암컷 친어와 메틸테스토스테론 투여에 의한 수컷 친어에 인간태반성성선자극호르몬(HCG)를 어체중 1㎏ 당 500IU를 주사하고 약 40-48시간 후, 채란 채정하여 인공수정하여 수정란을 얻을 수 있었고 수정능력을 갖고 있는 것이 확인되었다. 이상, 본 장에서는 메틸테스토스테론 임플랜트 투여에 의해 체중 1㎏ 당 2㎎ MT를 투여함으로서 능성어 미성숙 암컷을 완전히 그리고 지속적으로 수컷화 할 수 있음을 밝혔다. 또한 MT임플랜트 투여에 의한 웅성화에서는 수정 능력이 있는 것이 확인되었다.

제 2장 종묘생산에 있어서 자어의 활력과 그 생잔에 미치는 수온, 조명 및 feed oil의 영향

본 종의 종묘생산에 있어서 사육초기의 대량감모 요인은 자어의 활력부족, 부적절한 사육환경, 내부영양에서 외부영양으로 전환불량 및 부상폐사를 생각할 수 있다. 그래서 사육초기의 생잔율 향상을 목적으로 부화자어의 활력판정 지표로서 무급이생잔지수(Survival Activity Index, SAI)에 의한 자어 활력의 수치화를 시도함과 동시에 사육수온, 조명시간 그리고 사육수에 feed oil 첨가가 자어 생잔에 미치는 영향에 대해서 검토하고 그 결과로부터 양산규모로의 실증시험을 하였다.

수온을 자연수온구(19.5-20.5℃), 22.5℃구 및 25.0℃구로 설정한 1톤 수조에 수정란을 15,000립 수용하고 10일령까지 사육했다. SAI는 36.3으로 실험에 이용할 난으로 난질에는 문제가 없는 것으로 판단 되었다. 10일령 생잔율은 자연수온구의 0.1%에 비하여 25.0℃ 구는 9.2%로 수온이 높은 25.0℃ 구가 생존율이 높았다. 바리과 부화자어는

소형으로 섭식 개시 시의 구경이 작으므로 초기 사료인 rotifer의 크기가 또 입이 열린 후 단시간 내에 내부영양이 흡수 되기 때문에 외부영양으로의 전환시기가 자어의 생잔에 큰 영향을 미친다고 보고되고 있다. 수온이 높은 25℃ 구에서의 사육이 단시간에 내부영양이 흡수되지만 성장이 빠르고 구경도 커지므로 보다 큰 사이즈의 rotifer를 빨리 섭취가능하기 때문에 부드럽게 외부영양으로 전환이 일어나는 것으로 생각된다.

조명을 자연 일장구(14L) 및 연속조명구(24L)로 설정한 1톤 수조에 수온실험과 동일하게 수정란을 15,000립 수용하여 10일령까지 사육하였다. 사육수온은 25℃, SAI는 36.3℃ 이었다. 36일령 생잔율은 자연일장구의 9.2%에 비하여 연속일조구 21.3%로 조명구 쪽이 생잔율이 높게 나타났다. 자어는 무급이시, 개구후 일정시간이 경과되면 소화, 흡수 기능이 현저하게 저하하고 그 후 섭식해도 이후의 생잔에 치명적으로 되는 시기인 Point of No Return(PNR)이 존재합니다. 바리과 어류의 PNR은 다른 어종보다도 짧은 것으로 보고되고 있기 때문에 자연일장구에서는 PNR 시기가 야간에 걸리면 섭식이 불가능해지고 생잔율이 저하하지만, 연속조명구에서는 야간에도 섭식이 가능해서 향상한 것으로 생각된다.

오일 무첨가구 및 첨가구로 설정한 50톤 수조에 수정란을 각각 150만립 수용하고 60일령까지 급이하며 사육하였다. 사육수온은 25.0℃, SAI는 33.9℃ 였다. 1일령 및 실험종료시에 생잔율을 구했다. 1일령 생잔율은 대조구의 23.1%에 비하여 오일 첨가구는 56.9%로 오일첨가는 10일령까지의 부상폐사에 의한 감모방지에 효과가 있는 것으로 생각된다.

수온, 조명 및 feed oil 첨가실험 결과에 근거하여 양산규모에서의 사육실험을 총 7회 실시하였다. 50톤 수조에 수정란을 90-190만립 수용하고 60일령까지 사육했다. 수온은 25℃ 조명은 10일령까지 24시간 연속조명으로 하고 feed oil을 첨가했다. SAI와 10일령 생잔율을 구했다. 결과는 표로 나타냈다.

7회의 종묘생산 모두에서 치어(60일령)까지의 생산이 가능했다. 그 중에 5례에서는 10,000미 이상의 치어를 생산할 수 있었다.

이상 본 장에서는 수온, 조명 및 feed oil의 실험결과에 근거하여 사업규모에서의 양산실험 결과, SAI가 10보다도 높은 부화자어를 이용하면 10일령까지의 감모를 어느 정도 방지할 수 있어 실험의 재현을 확인할 수 있었다.

제3장 종묘생산에 있어서 바이러스성 신경괴양증 방제책 검토

종묘생산중에 VNN 발병에 의한 대량사망이 확인되어 큰 문제가 되고 있다. 원인 바이러스의 감염경로는 불명이지만, 다른 어종의 경우와 마찬가지로 친어에서 유래된 수직감염과 사육수 유래의 수평감염을 생각할 수 있다. 대책으로는 바이러스 유전자 검출에 의한 친어 선별, 옥시단트 해수에 의한 수정란 소독 및 오존처리해수에 의한 종묘생간에 의해 VNN 발병 방제에 효과가 있는 것으로 보고 되고 있다. 그래서 능성어 종묘생산에 있어서 VNN 방어대책으로서 이러한 방법을 검토하였다.

친어로부터 난소란 및 정액을 채취하고 채취한 검체로부터 RT-PCR법 및 nested-PCR법으로 바이러스 유전자를 검출하였다. 그리고 바이러스가 검출되지 않은 수컷 및 암컷의 친어를 오존처리해수를 사육수로 사용하나 75톤 육상수조에 수용하

고 일년 내내 양성하였다. 그리고 수용 1년 후 및 2년 후에 다시 난소란 및 정액을 채취하고 바이러스 유전자를 검출하였다.

1999년은 난소란, 정액 및 수정란 검체 모두 바이러스가 검출되었다. 1999년 검사에서 PCR 음성이었던 친어에서만 채취된 2000년 검사에서는 난소란 정액 및 수정란 어느 것으로부터도 바이러스는 검출되지 않았다. 같은 친어에서 채취한 2001년 검사에서도 난소란, 정액 및 수정란에서도 바이러스는 전혀 검출되지 않았다. 1999년에는 친어의 난소란 및 정액으로부터 바이러스가 검출되어 능성어에 있어서도 수직감염이 VNN의 주요한 감염경로인 것으로 추정되었다. 2000년 및 2001년 종묘생산에서는 VNN이 발생하지 않았으므로 친어선별 및 오존처리해수에 의한 친어 양성은 유효한 방법인 것으로 생각된다.

VNN 원인 바이러스는 0.5ppm의 잔류 옥시단트 농도 30초 처리로 불활성화 효과가 확인되었다. 그러나 능성어 알 소독에 이용하기 위해서는 미부화 난의 발생 등 난에 미치는 영향에 대해서 확인할 필요가 있다. 그래서0.5ppm 옥시단트 해수를 이용하여 발생단계와 소독시간의 두 가지 실험을 시행하고 그 결과를 근거로 양산규모에서 난소독 실험을 실시하고 능성어 수정란에 미치는 영향에 대해서 검토하였다.

채란한 친어마다 안포출현기(수정 후 24시간)의 난 50-100만립을 0.5ppm의 옥시단트 해수로 60초간 소독하고 부화율, 미부화율 및 SAI를 계산하였다. 부화율은 9.0-98.7%, 미부화율은 0.4- 51.3%, SAI는 3.6-39.4의 범위에 있고 미부화란의 비율이 10% 이상 이었던 5례 가운데 4례의 SAI가 10이상이었다. 이 결과는 옥시단트에 대한 감염성이 난의 상태에 따라 다른 것을 나타낸다. SAI가 10이상의 알을 이용한 종묘생산 실험에서는 모두 치어생산이 가능했으므로 실제로 종묘생산에 사용하는 난이라면 0.5ppm, 60초 소독이 부화율을 크게 저하시키지 않는 것으로 생각된다.

난 소독실험에서 사용한 난을 50톤 수조에 수용하고 사육해수에 오존처리해수를 이용한 양산규모에서의 종묘생산실험을 총 8회 시행하였다. 사육수온은 25.0℃로 했다. 사료에는 3일령부터 9일령까지는 태국산 s형 rotifer 소형종, 10-38일령에는 s형 rotifer, 24-50일령에는 알테미아, 33-60일령에는 시판의 배합사료를 사용했다. Rotifer 2차 배양, 알테미아 배양 및 수확시의 세정에는 오존처리해수를 사용했다. 60일령에서 모든 개체를 꺼내서 계수하고 바이러스유전자의 검출을 시행하였다. 또한 생산된 치어를 모래여과해수구 및 오존처리해수구의 수조에서 계속 사육했다.

종묘생산 실험결과, 8례 모두에서 치어까지 생산할 수 있었고 그 가운데 5례에서는 10,000미 이상의 치어를 생산하였다. PCR법에 의한 검사에서는 치어(60일령)에서 바이러스는 전혀 검출되지 않았다. 또한 종묘생산실험에서 생산한 치어(PCR 음성)를 이용한 오존처리해수와 모래여과해수에 의한 사육실험결과를 표로 나타냈다. 2000년 실험에서는 오존처리해수구의 3례 모두에서 VNN은 발생되지 않았고 누적사망율은 1.4-2.8%이고 바이러스는 검출되지 않았다. 모래여과해수구에서는 실험개시 후 21일째 VNN이 발생하여 누적사망율은 46.0%가 되고 바이러스가 검출되었다. 2001년 실험에서 오존처리해수구의 4례에서 VNN의 발생은 확인되지 않았고 누적사망율은 1.6-2.2%였다. 바이러스는 검출되지 않았다. 모래여과해수구에서는 3례모두에서 실험중에 VNN이 발생하였고 누적사망율은 87.9-99.8%이고 바이러스가

검출되었다. 상기의 치어사육실험결과에서 VNN의 감염경로는 사육해수로부터의 수평감염이 시사됨과 동시에 오존처리해수의 사용으로 바이러스 감염이 저하하고 VNN발병을 방지한 것으로 생각된다.

이상 본 장에서는 다른 어종에 있어써 실시된 바이러스검출에 의한 친어의 선별, 옥시단트해수에 의한 난소독, 오존처리해수에 의한 사육, 이들을 조합하여 사용하는 것으로 능성어 종묘생산과정에서 VNN은 발병되지 않았고 이병의 발생을 방지할 수 있음이 명확해졌다.

미에현에서는 1999년부터 생산한 종묘를 현 내의 어류양식업자에게 분양하고 있고 2001년에는 처음으로 해면양식된 어류가 어시장에 출하되어 2,200-2,400엔/kg으로 양식산 참돔을 크게 웃도는 가격으로 거래되어 인공종묘의 시장성이 확인되었다.

또 미에현은 능성어 종묘생산기술을 응용하여 자바리의 종묘생산 및 인공종묘 분양도 시행하고 있다. 자바리는 저수온기의 성장이 능성어에 비해 나쁘기 때문에 현재 폐쇄순환식육상양식시스템에 의한 자바리 가온양식의 기업화를 목표로 하고 있다.

앞으로도 안정된 종묘생산기술개발을 함과 동시에 능성어 및 자바리의 완전양식화를 실현하고자 합니다.

제4장 연구결과의 능성어 및 자바리 양식기술에 응용

우리 연구 그룹은 1996년부터 능성어 및 자바리 종묘생산기술개발에 관한 연구에 착수하여 친어양성, 성전환, 초기사육, VNN대책 등의 종묘생산기술은 거의 확립되었다고 생각합니다. 그 결과 1999년부터2006년까지 8년간 연속해서 능성어 종묘생산에 성공함과 동시에 2001년에는 처음으로 10만미 이상 종묘생산에 성공하였고, 그 재현성을 확인하였다. 미에현의 능성어 종묘생산미수는 전국에서도 top level이고 1999년부터 2001년까지의 누적생산미수는 일본 국내 생산량 전체의 약 반수를 차지하고 있다. 본 연구에 의해 능성어 인공종묘생산이 가능하게 되고 어류양식업자에서 종묘 공급이 가능하게 된 것은 의의가 크다고 할 수 있겠다. 또, 본 연구의 성과는 단순히 능성어 뿐만 아니라 자바리를 비롯한 다른 바리과나 다른 어종의 종묘생산기술개발에도 응용 가능할 것으로 생각되고 어류양식업의 발전에 기여할 것으로 기대된다.